

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	中 村 聡
論文審査担当者	主 査 伊 藤 研 一 副 査 小 泉 知 展 ・ 平 塚 佐 千 枝
論文題目	RhoA G17E/Vav1 signaling induces cancer invasion via matrix metalloproteinase-9 in gastric cancer. (胃癌における RhoA G17E/Vav1 シグナルは マトリックスメタロプロテアーゼ-9 を介したがん浸潤を誘導する)
(論文の内容の要旨)	<p>【背景と目的】</p> <p>Rho ファミリーの低分子量 GTPase である RAS homolog family member A (RhoA) と Rho ファミリー GTPase のグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) である Vav1 は、アクチンなどの細胞骨格に関連する経路を活性化し、細胞の形状、接着、運動性を制御することが報告されている。一部の Tcell リンパ腫では、これらの分子の相互作用が悪性腫瘍のシグナル伝達に関与していることが報告されているが、上皮性悪性腫瘍における機能は不明である。本研究では、胃癌における変異型 RhoA の存在によるシグナル変化を調べ、RhoA が上皮性がんにおいてどのような役割を果たすかを明らかにした。また、RhoA G17E/Vav1 がびまん性胃癌の新規治療標的となる可能性を示した。</p> <p>【方法】</p> <p>RhoA 野生型 WT と RhoA 変異型 R5W、G17E、Y42C を胃癌細胞株 MKN74 にレトロウイルスで導入し、RhoA 変異型が安定発現する細胞株を作成し、in vitro で形態学、増殖、遊走/浸潤試験、in vivo で腹膜異種移植試験を行った。</p> <p>【結果】</p> <p>RhoA 変異型 G17E および Y42C は、MKN74 に形態変化を誘導した。細胞増殖能は野生型、変異型の遺伝子導入で変化はなかったが、G17E で遊走能、浸潤能を促進することが分かった。それらの変化の原因を検索するため、RhoA シグナルの下流を検索すると、G17E で Cofilin のリン酸化が亢進していることが分かった。しかし、Cofilin のリン酸化を阻害薬にて抑制すると、遊走能は反対にさらに亢進し、浸潤能は変化しない結果であった。そのため、RhoA 下流の変化が G17E による浸潤能亢進の経路として関連付けられなかった。ほかの経路の関与を考え、Tcell リンパ腫の報告などから RhoA の活性化の調整因子である Vav1 に着目した。Vav1 について既存の遺伝子導入された MKN74 で検討すると、G17E で Vav1 の mRNA およびタンパク質レベルで発現が亢進していることが分かった。ほかの胃癌細胞 (MKN45) でも、G17E の導入で mRNA の増加を認めた。Vav1 の RNA 干渉試験により、RhoA G17E は Vav1 を介して癌細胞の浸潤を促進することが明らかになった。さらに、免疫沈降法により、Vav1 と RhoA G17E が特異的に結合していることが示された。Vav1 と RhoA G17E の浸潤能亢進への経路は、RhoA、Vav1 の下流 pathway を検索するも、証明するには至らなかったが、matrix metalloproteinase -9 (MMP9) が Vav1 の RNA 干渉試験で関与を示し、RhoAG17E による浸潤能亢進は Vav1 と結合することで MMP9 を介して機能することが明らかになった。また、ヌードマウスの腹膜異種移植モデルにおいて、G17E は野生型 WT と比較して腹膜播種結節形成を促進することが示された。これらの腹膜播種結節形成は Vav1 のノックダウンによって抑制されることも示された。</p> <p>【結論】</p> <p>RhoA 変異型 G17E は Vav1 と結合することが示され、それらは Matrix Metalloproteinase -9 を介して胃癌細胞の浸潤を促進することが示唆された。したがって、びまん性胃癌における RhoAG17E/Vav1 シグナルは、治療標的として有用である可能性が示唆された。</p>